Münster i/W. 1934. Nr 42 Med Diss.

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund

Ueber die Wirkung von Bromacetat, Fluorid und Oxalat auf intermediäre Stoffwechselvorgänge.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Vorgelegt von
Zahnarzt Karl Dickel
aus Dortmund

1934

Druckausführung Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

Dekan: Prof. Dr. Klinge

Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann

Korreferent: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Ueber die Wirkung von Bromacetat, Fluorid und Oxalat auf intermediäre Stoffwechselvorgänge.

Ein Kennzeichen aller tierischen Gewebe ist die Fähigkeit zur Milchsäurebildung, die im wesentlichen auf Kosten der Kohlenhydrate vor sich geht. Die Milchsäurebildung kann durch Gifte angeregt oder verzögert werden. Die Hemmungsmittel der Milchsäurebildung sind vor allem Bromacetat, Fluorid u. Oxalat. Schwartz und Oschmann[1]) fanden, daß unter der Monobromessigsäurewirkung keine Vermehrung der Milchsäure auftritt. Natriumfluorid hemmt nach Lipmann[2]) die Milchsäurebildung in n/100 Lösung um 100 %, Oxalat nach Meyerhof[3]) in n/20 Lösung um 90 %. Nach Haarmann[4]) unterdrückt monobromessigsaures Natrium in einer Konzentration von 1:500 (unter anaeroben Bedingungen) die Milchsäurenachbildung aus den im Gewebe präformierten Kohlenhydraten, sowie aus zugesetzten Kohlenhydraten nicht nur vollkommen, sondern darüber hinaus verschwindet sogar ein Teil der ursprünglich im Gewebe vorhandenen Milchsäure. Dieser anaerobe Milchsäureschwund stellt eine neue bisher unbekannte Stoffwechselleistung des Gewebes dar, die von anderen Autoren nicht nachgewiesen wurde, weil die Milchsäurenachbildung normalerweise den anaeroben Milchsäureschwund überlagert. Der anaerobe Milchsäureschwund wurde vor allem deswegen nicht sichtbar, weil zu den Versuchen fast ausschließlich Skelettmuskulatur verwendet wurde, die aus ihren präformierten Kohlenhydraten reichlich Milchsäure nachbildete. Erst wenn die Milchsäurenachbildung unterdrückt wird, kann der anaerobe Milchsäureschwund im Muskel sichtbar werden, was nach Haarmann[5]) auch durch n/20 Natriumoxalat und n/100 Natriumfluorid gelingt. In Hirngewebe, das nur sehr wenig Milchsäure

---

[1]) C. r. d. soc. d. biol. 91, 275, 1924; 92, 165, 1925.
[2]) Biochem. Zeitschrift 196, 3, 1928.
[3]) Pflügers Archiv 188, 114, 1921.
[4]) Biochem. Zeitschrift 256, 326, 1932.
[5]) Biochem. Zeitschrift 256, 350, 1932.

nachbildet, weil seine Kohlenhydratreserven nur sehr gering sind, läßt sich der Nachweis des anaeroben Milchsäureschwundes auch ohne Zusatz von Bromacetat, Fluorid und Oxalat führen, besonders wenn zu den Versuchen Milchsäure in Form von Natriumlactat hinzugefügt wird. Ueberhaupt wird der anaerobe Milchsäureschwund durch Lactatzusatz gesteigert, da ja alle Fermentreaktionen bis zu einem gewissen Grade dem Massenwirkungsgesetz gehorchen. Geht man mit der Konzentration der drei Gifte herunter, so hört von einer bestimmten Dosierung ab die Hemmung auf die Milchsäurebildung auf und schlägt nach noch unveröffentlichen Versuchen von Haarmann und Stratmann in eine Steigerung der Milchsäurebildung um. Große Gaben der drei Verbindungen wirken auf die Milchsäurebildung umgekehrt ein wie kleine Gaben. Das gilt nicht nur für die Milchsäurebildung im Gewebe aus den körpereigenen Kohlenhydraten, sondern auch aus den zugesetzten Kohlenhydraten Glykogen, Glukose und Hexosediphosphat.

Die Tabellen 1—2 enthalten die gefundenen Milchsäurewerte. Um die Wirkungsstärke der drei Stoffe miteinander vergleichen zu können, wurden zu allen Versuchen äquimolare Lösungen verwendet. Die Tabelle 1 behandelt das Milchsäurebildungsvermögen der Skelettmuskulatur vom Kaninchen und zwar zunächst ohne jeden Zusatz von Kohlenhydraten, ferner nach Zusatz von Glykogen und hexosediphosphorsaurem Natrium.

Nach Versuchen von Haarmann[6]) sind im Skelettmuskel vom Kaninchen Glykogen und Hexosediphosphat starke Milchsäurebildner, nicht aber Glukose. Alle übrigen Organe verhalten sich genau umgekehrt. Sie führen in erster Linie Glukose in Milchsäure über, nicht aber Glykogen und Hexosediphosphat. Eine Ausnahme bildet die Leber, die weder aus Glukose noch aus Glykogen Milchsäure bildet.

Aus den Versuchen der Tabelle 1 geht hervor, daß die drei Stoffe in m/10 Lösung die Milchsäurebildung auch aus zugesetzten Zuckern vollkommen unterdrücken. Ja darüber hinaus ist sogar ein erheblicher Teil der ursprünglich im Gewebe vorhandenen Milchsäure zum Verschwinden gebracht worden. Das Monobromacetat erweist sich dem Oxalat und Fluorid gegenüber an Wirkungsstärke erheblich überlegen. In den Versuchen ohne Zusatz sind unter der Wirkung von Monobromacetat in

[6]) Biochem. Zeitschrift 255, 103, 1932.

Tabelle 1.

Skelettmuskel: Kaninchen.

Milchsäure: mg %

		Versuch 1			Versuch 2		
		ohne Zusatz	Glykogen	Hexosediphosphat	ohne Zusatz	Glykogen	Hexosediphosphat
direkter Versuch		576	— —	— —	624	— —	— —
Kontrollversuch		573	1101	1059	753	1470	1140
Konzentration:							
Bromacetat	1.10^{-9} m	702	1212	1054	873	1605	1160
	1.10^{-8} m	675	1230	1066	861	1629	1335
	1.10^{-7} m	663	1293	1054	813	1731	1404
	1.10^{-6} m	654	1272	1047	810	1671	1488
	1.10^{-5} m	642	1209	1065	801	1542	1450
	1.10^{-4} m	564	1215	1071	750	1425	1194
	1.10^{-3} m	558	1143	1047	642	1416	996
	1.10^{-2} m	492	547	621	378	540	624
	1.10^{-1} m	306	334	282	309	480	375
Fluorid	1.10^{-9} m	570	1104	1056	756	1500	1194
	1.10^{-8} m	600	1239	1098	759	1482	1341
	1.10^{-7} m	609	1245	1032	756	1596	1317
	1.10^{-6} m	600	1266	1038	888	1611	1290
	1.10^{-5} m	645	1287	1044	885	1571	1200
	1.10^{-4} m	654	1101	1029	882	1509	1200
	1.10^{-3} m	651	795	915	687	1467	1170
	1.10^{-2} m	618	627	738	423	660	744
	1.10^{-1} m	411	480	714	366	480	480
Oxalat	1.10^{-9} m	570	1104	1062	864	1641	1125
	1.10^{-8} m	588	1135	1044	900	1704	1194
	1.10^{-7} m	642	1158	1104	924	1674	1299
	1.10^{-6} m	678	1218	1101	933	1668	1305
	1.10^{-5} m	666	1170	1170	912	1640	1266
	1.10^{-4} m	600	1128	1092	909	1440	1172
	1.10^{-3} m	567	1101	1020	766	1269	1116
	1.10^{-2} m	519	750	816	666	744	744
	1.10^{-1} m	516	654	630	492	543	555

Versuch 1 47 %, unter der Fluoridwirkung 29 % und unter der Oxalatwirkung 10 % der präformierten Milchsäure zum Verschwinden gebracht worden, in Versuch 2 50 % bzw. 41 %, bzw. 21 %. Das Bromacetat ist also wirksamer als das Fluorid, das Fluorid wirksamer als das Oxalat. Ein gleiches Verhalten der drei Stoffe zeigt sich auch bei der Milchsäurebildung aus

Tabelle 2.

Hund.

Milchsäure: mg %

		Herz:	Niere:	Hirn:
direkter Versuch:		192	81	162
Nullversuch:		378	114	180
Glukose (Kontrolle)		870	336	654
Konzentration:				
Bromacetat	1.10^{-9} m	873	348	744
	1.10^{-8} m	870	345	687
	1.10^{-7} m	942	333	675
	1.10^{-6} m	981	423	627
	1.10^{-5} m	1011	348	540
	1.10^{-4} m	411	210	345
	1.10^{-3} m	216	105	177
	1.10^{-4} m	132	72	120
	1.10^{-1} m	87	30	108
Fluorid	1.10^{-9} m	969	336	699
	1.15^{-8} m	1101	396	696
	1.10^{-7} m	1023	351	699
	1.10^{-6} m	1008	366	714
	1.10^{-5} m	963	363	711
	1.10^{-4} m	849	357	666
	1.10^{-3} m	435	243	387
	1.10^{-2} m	231	99	186
	1.10^{-1} m	219	90	177
Oxalat	1.10^{-9} m	990	333	642
	1.10^{-8} m	984	330	654
	1.10^{-7} m	996	408	648
	1.10^{-6} m	1041	354	669
	1.10^{-5} m	1026	342	669
	1.10^{-4} m	864	339	600
	1.10^{-3} m	819	384	499
	1.10^{-2} m	468	264	348
	1.10^{-1} m	285	195	288

Glykogen und Hexosediphosphat. In diesen Fällen wird die Milchsäurenachbildung regelmäßig durch Bromacetat verhindert, nicht aber in jedem Falle durch Fluorid und Oxalat. Hieraus ergibt sich, daß die von diesen Kohlenhydraten zur Milchsäurebildung führenden fermentativen Vorgänge nicht die gleiche Giftempfindlichkeit besitzen. Es zeigt sich weiterhin, daß das

gleiche Gewebe von verschiedenen Tieren derselben Art auf das gleiche Gift individuell verschieden anspricht. Auch bei der zehnfach niedrigeren Giftkonzentration von 1/100 m wird die Milchsäurenachbildung durch die drei Verbindungen in fast allen Fällen unterdrückt, am schwersten aus Hexosediphosphat. Geht man mit der Giftkonzentration weiter herunter, so hört von einer bestimmten Konzentration ab, die für die drei Verbindungen nicht bei der gleichen Verdünnung liegt, die Hemmungswirkung auf und geht in eine Förderung der Milchsäurebildung über, die für die einzelnen fermentativen Vorgänge und Gifte verschieden hoch ist. So liegt das Optimum der Förderungswirkung von Monobromacetat auf die Milchsäurebildung aus Glykogen bei 1.10^{-7} m, bei Fluorid bei 1.10^{-6} m bis 1.10^{-5} m und beim Oxalat bei 1.10^{-8} m bis 1.10^{-6} m. Entsprechende Werte gelten auch für den Abbau von Hexosediphosphat.

Die Milchsäurenachbildung wird also besonders stark durch mittlere Konzentrationen der drei Stoffe angeregt. Der Grad der Förderung ist allerdings sehr verschieden. Er beträgt bei der Milchsäurebildung aus Glykogen und Hexosediphosphat bis zu über 30 % gegenüber dem Kontrollversuch. Die Stoffwechselwirkung der drei Gifte ist bereits in den stärksten Verdünnungen von 1.10^{-10} m nachweisbar, in Verdünnungen also, bei denen ein chemischer Nachweis nicht mehr möglich ist.

Die Milchsäurebildung aus Glukose durch Herzmuskel, Niere und Hirn wird nur durch Monobromacetat vollkommen unterdrückt, nicht aber durch Fluorid und Oxalat. Während bei der Milchsäurebildung im Skelettmuskel Fluorid und Oxalat die Milchsäurebildung um annähernd denselben Betrag herabsetzen, ist beim Glukoseabbau das Fluorid dem Oxalat weit überlegen. Besonders deutlich kommen diese Unterschiede bei den Konzentrationen von 1.10^{-2} m und 1.10^{-3} m heraus. So sind z. B. bei einer Konzentration von 1.10^{-2} m im Herzmuskel durch Bromacetat 60 mg % zum Verschwinden gebracht worden, unter der Fluoridwirkung sind 39 mg % und unter der Oxalatwirkung 176 mg % nachgebildet worden. Die entsprechenden Werte für 1.10^{-3} m sind + 24 mg %, + 242 mg %, + 627 mg % Milchsäure. Die Versuche sprechen dafür, daß der Wirkung der drei Stoffe auf die Milchsäurebildung aus Glukose ein verschiedener Mechanismus zu Grunde liegt. Da die Milchsäurebildung im Herzmuskel über die Stufe des Hexosephosphorsäureester vor sich geht, so könnte erwartet werden, daß die drei Verbindungen die Bildung bzw. Aufspaltung dieser Ester in verschiedener Weise

beeinflussen. Dieser Deutungsversuch ist für den Glukoseabbau durch Hirngewebe nicht zulässig, weil hierbei die Stufe der Hexosephosphorsäureester nicht durchlaufen wird, wie die Untersuchungen von Watermann[7]) sowie von Kraut und Bumm[8]) und von Bumm und Fehrenbach[9]) ergeben haben.

Der Mechanismus des Glukoseabbaues in den verschiedenen Organen ist nicht einheitlich. Es treten einmal als Zwischenprodukt Hexosephosphorsäureester auf, in anderen Fällen wiederum nicht. Die reduzierenden Zucker, Glukose und Fruktose, ferner die beim Glykogenabbau entstehende Hexose, werden nicht ohne weiteres weiterverarbeitet. Sie müssen in jedem Falle zunächst in eine leicht abbaufähige Verbindung umgewandelt werden. Hierzu sind besondere Aktivatoren notwendig. Erfolgt der Zuckerabbau über die Phosphorsäureester, so handelt es sich um einen Aktivator, den Meyerhof[10]) als Hexokinase bezeichnet. Die Hexokinase, die wasserlöslich und thermolabil ist, besitzt alle Eigenschaften eines Fermentes und wirkt spezifisch ein auf die gärfähigen Hexosen. Sie hat die Aufgabe, die Hexosen in eine der Veresterung leicht zugängliche Form umzuwandeln. Es entsteht also unter der Mitwirkung der Hexokinase durch die Gewebsphosphatasen eine Hexosemonophosphorsäure, die dann wieder gespalten wird, wobei als Endprodukt die Milchsäure entsteht. Der Glukoseabbau ohne Phosphatbeteiligung wird durch den von Bumm als Coferment T bezeichneten Aktivator in die Wege geleitet. Das Coferment T findet sich vor allem reichlich in Tumorgeweben. Alle Organe bauen die Glukose erst nach intermediärer Veresterung mit Phosphorsäure ab. Eine Ausnahme bilden lediglich Hirngewebe, Retina und Tumorgewebe. In diesen Organen findet also keine Phosphorylierung d. h. Veresterung mit Phosphorsäure statt. Nierengewebe nimmt insofern nach Versuchen von Bumm eine Sonderstellung ein, als es über beide Abbaumöglichkeiten der Glukose verfügt. Hier regen die Meyerhof'sche Hexokinase, sowie das Bumm'sche Coferment T die Milchsäurebildung aus Glukose an. Die Hemmung der Milchsäurebildung aus Glukose in unseren Versuchen durch Hirngewebe kann also nicht auf eine Mitbeteiligung des Phosphatstoffwechsels zurückgeführt werden, sondern muß eine andere Ursache haben. Man muß da zunächst vor allem an die

[7]) Brit. Journ. of exp. Path. 6, 300, 1925.
[8]) Hoppe-Seylers Z. 177, 125, 1928; 184, 196, 1925.
[9]) Ebenda: 193, 230, 1930; 195, 101, 1931.
[10]) Naturwissenschaften 14, 1175, 1926; Bioch. Z. 183, 176, 1927.

Vorgänge denken, die das Zuckermolekül in einfachere Verbindungen mit weniger als 6 Kohlenstoffatomen zerlegen. Als Spaltungsprodukt der Kohlenhydrate ist von Neuberg und Kobel[11]) sowie von Vogt[12]) das Methylglyoxal, der Aldehyd der Brenztraubensäure, nachgewiesen worden. Die Umwandlung desMethylglyoxals in Milchsäure, die mit größter Leichtigkeit in allen Geweben vor sich geht, wird nach Haarmann[13]) durch Fluorid, Oxalat und Bromacetat in keiner Weise beeinträchtigt. Der Angriffspunkt der drei Gifte muß also bereits bei den Vorgängen einsetzen, die das Glukosemolekül in die sogen. Triosen überführen, also am Hexosemolekül selbst.

In den bisher besprochenen Versuchen hat es sich gezeigt, daß Bromacetat, Fluorid und Oxalat in stärkeren Verdünnungen die Milchsäurebildung anregen. Die Menge der im Gewebe gefundenen Milchsäure ist abhängig einmal von der Menge der gebildeten Milchsäure und zweitens von der anaerob zum Verschwinden gebrachten Milchsäure. Eine gesteigerte Milchsäurebildung könnte einmal auf eine direkte Förderung der Milchsäurebildung zurückzuführen sein, ferner aber auch auf einen verschlechterten anaeroben Schwund. Um diese Frage zu klären war es notwendig, den Einfluß der drei Gifte auf den anoxybiontischen Milchsäureschwund zu untersuchen. Für diese Versuche kamen nur Gewebe in Frage, die wie Hirngewebe nur geringe Mengen von Milchsäure nachbilden. Außerdem war es notwendig, die Menge der anaerob verschwundenen Milchsäure durch Lactatzusatz zu steigern. In Tabelle 3 sind zwei Versuche mit Hirngewebe angeführt, ferner ein Versuch mit Skelettmuskulatur vom Kaninchen, bei dem im Kontrollversuch ohne Zusatz der Gifte die Milchsäurewerte nicht höher liegen als im direkten Versuch.

Es ergab sich, daß in den Hirnversuchen Milchsäure anaerob zum Verschwinden gebracht wird. In starken Verdünnungen arbeiten Bromacetat, Fluorid und Oxalat diesem anaeroben Milchsäureschwund entgegen. Sie heben ihn im ersten Hirnversuch bei bestimmten Konzentrationen sogar vollkommen auf, sie verschlechtern ihn im zweiten Hirnversuch erheblich. Es ergibt sich hieraus, daß die erhöhten Milchsäurewerte im Gewebe, die bei diesen Konzentrationen sowie nach Zusatz von Glukose, Glykogen und Hexosediphosphat gefunden werden, zum minde-

---

[11]) Bioch. Z. 203, 463, 1928; 207, 232, 1929.
[12]) Ebenda 217, 17, 1929.
[13]) Ebenda 256, 350, 1932.

Tabelle 3.

	mg % Milchsäure			Milchsäure: % vom direkten Versuch		
	Muskel	Hirn	Hirn	Muskel	Hirn	Hirn
direkter Versuch	576	1468	1380	100	100	100
Kontrollversuch	573	1372	1266	100	93	92
Konzentration						
Bromacetat 1.10^{-9} m	702	1404	1288	122	96	93
1.10^{-8} m	675	1400	1315	117	95	95
1.10^{-7} m	663	1380	1325	115	94	96
1.10^{-6} m	654	1492	1354	114	102	98
1.10^{-5} m	647	1370	1288	112	93	93
1.10^{-4} m	564	1278	1260	98	87	91
1.10^{-3} m	558	1298	1225	97	88	89
1.10^{-2} m	492	805	946	85	55	69
1.10^{-1} m	306	297	428	53	20	31
Fluorid 1.10^{-9} m	570	1370	1306	99	93	95
1.10^{-8} m	600	1405	1312	104	96	95
1.10^{-7} m	609	1420	1320	106	97	96
1.10^{-6} m	600	1510	1308	104	103	95
1.10^{-5} m	645	1530	1306	112	104	95
1.10^{-4} m	654	1420	1260	114	97	92
1.10^{-3} m	651	1442	1280	113	98	93
1.10^{-2} m	618	1550	1260	107	106	92
1.10^{-1} m	411	1350	1212	71	92	88
Oxalat 1.10^{-9} m	570	1375	1250	99	94	91
1.10^{-8} m	588	1350	1318	102	92	96
1.10^{-7} m	642	1340	1350	111	92	98
1.10^{-6} m	678	1432	1330	117	98	96
1.10^{-5} m	666	1540	1280	115	105	93
1.10^{-4} m	600	1460	1280	104	99	93
1.10^{-3} m	567	1482	1320	96	107	96
1.10^{-2} m	519	1520	1306	90	104	95
1.10^{-1} m	516	1365	1280	89	93	93

sten zum Teil auf eine Aufhebung des anaeroben Milchsäureschwundes zu beziehen sind. In hohen Konzentrationen zeigt sich der Unterschied der drei Gifte besonders eindrucksvoll. In den Hirnversuchen sind unter der Wirkung von Monobromacetat (1.10 m) 70—80 % der ursprünglich vorhandenen Milchsäure verschwunden, in den Fluorid- und Oxalatversuchen ca. 10 %. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Bromacetat in höheren Konzentrationen den anaeroben Milchsäureschwund

nicht nur sichtbar macht, sondern ihn sogar fördert, während das Fluorid und das Oxalat ihn nicht anregen, indem hier die Menge der verschwundenen Milchsäure von der gleichen Größenordnung ist, wie in den Kontrollversuchen ohne Zusatz von Fluorid und Oxalat.

Wie in vorstehendem auseinandergesetzt, ist die Grundwirkung der drei Gifte in höheren Konzentrationen eine Hemmung und in stärkeren Verdünnungen eine Förderung der Milchsäurebildung. Da die tieferen Kohlenhydratabbauvorgänge, die die Umwandlung der Spaltungsprodukte der Zucker — Triosen — in Milchsäure vermitteln, ungestört verlaufen, so muß der Angriffspunkt der Gifte die Vorgänge betreffen, die das Zuckermolekül zu den Triosen aufspalten. Es muß da zunächst an die Zuckerphosphorsäuren gedacht werden, die beim intermediären Zuckerabbau entstehen, mit Ausnahme des Glukoseabbaues durch Hirn und Lunge. Verläuft die Bildung oder auch die Spaltung der Hexosephosphorsäuren verlangsamt, dann muß eine Hemmung der Milchsäurebildung die Folge sein. Nach den Untersuchungen von Embden und Lehnartz[14]) findet im Muskelbrei und Muskelpressaft eine Veresterung von anorganischem Phosphat mit Zucker durch Zusatz von Natriumfluorid statt, desgleichen nach Deuticke[15]) durch Oxalat. Embden und Zimmermann[16]) und Lohmann[17]) haben die Eigenschaft des Fluorids benutzt, um die entstandenen Zuckerphosphorsäuren darzustellen. Die Hemmung der Milchsäurebildung kann also nicht auf eine verminderte Bildung der Phosphorsäureester zurückgeführt werden. Die Tatsache, daß bei hohen Konzentrationen der Gifte anorganisches Phosphat verschwindet, ist ein Beweis dafür, daß die Aufspaltung der Zuckerphosphorsäuren und nicht ihre Bildung gehemmt werden.

Aus Tabelle 4 geht hervor, daß die Aufspaltung von organischen Phosphorsäuren, — Hexosediphosphat und Glyzerinphosphat — durch Fluorid, Oxalat und Bromacetat sehr stark beeinträchtigt wird. Wir dürfen hieraus folgern, daß die Hemmung der Milchsäurebildung wenigstens zum Teil auf eine Schädigung der Gewebsphosphatasen beruht. Die Steigerung der Milchsäurebildung durch schwache Konzentrationen der Gifte

---

[14]) Hoppe-Seylers Z. f. Physiol. Chemie 134, 243, 1924.
[15]) Ebenda: 141, 209, 1924.
[16]) Ebenda: 141, 225, 1924.
[17]) Biochem. Zeitschrift 222, 324, 1930; 236, 444, 1931 Dissertation, Münster 1934.

Tabelle 4.

Phosphatasen.

P-Abspaltung: % vom Kontrollversuch.

Konzentration		Hexosediphosphat			Glyzerinphosphat		
		Muskel	Niere	Leber	Muskel	Niere	Leber
Bromacetat	1.10^{-10} m	68	85	89	103	105	67
	1.10^{-9} m	89	88	103	80	101	80
	1.10^{-8} m	106	91	107	73	96	82
	1.10^{-7} m	97	77	114	95	96	96
	1.10^{-6} m	86	71	110	117	102	84
	1.10^{-5} m	110	91	101	101	106	78
	1.10^{-4} m	95	87	92	72	107	70
	1.10^{-3} m	100	84	84	66	109	69
	1.10^{-2} m	74	62	59	45	65	64
	1.10^{-1} m	26	39	34	24	39	36
Fluorid	1.10^{-10} m	94	76	95	77	93	41
	1.10^{-9} m	104	83	99	99	96	55
	1.10^{-8} m	113	88	102	114	98	67
	1.10^{-7} m	103	76	115	96	97	72
	1.10^{-6} m	96	88	107	86	90	66
	1.10^{-5} m	114	74	104	92	90	62
	1.10^{-4} m	95	92	85	97	94	50
	1.10^{-3} m	90	84	86	105	106	42
	1.10^{-2} m	67	73	75	84	88	25
	1.10^{-1} m	37	65	35	36	56	3
Oxalat	1.10^{-10} m	81	82	92	94	85	71
	1.10^{-9} m	91	89	100	75	87	71
	1.10^{-8} m	95	91	109	71	85	78
	1.10^{-7} m	90	95	119	60	97	96
	1.10^{-6} m	96	90	107	77	90	68
	1.10^{-5} m	95	83	99	101	83	64
	1.10^{-4} m	87	91	97	107	87	71
	1.10^{-3} m	84	82	88	88	95	59
	1.10^{-2} m	72	85	80	52	81	46
	1.10^{-1} m	19	60	25	26	43	23

könnte umgekehrt eine Folge einer gesteigerten Tätigkeit der Phosphatasen sein. Die Werte für die Phosphatabspaltung in Tabelle 4 lassen erkennen, daß in starken Verdünnungen durch die drei Verbindungen die Phosphatabspaltung, wenn auch nicht in allen Fällen, angeregt wird. Wie die Schröder'schen Versuche zeigen, besteht bei verschiedenen Tieren eine starke individuelle Giftempfindlichkeit in der Weise, daß einmal die Phosphatabspaltung gesteigert ist, ein andermal wieder nicht. Hier-

mit stimmt überein, daß die Milchsäurebildung aus Hexosediphosphat in Versuch 1 durch die drei Gifte nicht gesteigert wird, wohl aber in Versuch 2. Die Ausbeuten an Milchsäure und abgespaltenem Phosphat stimmen also überein.

Neben der Milchsäurebildung sind zwei weitere Stoffwechselleistungen des Gewebes geeignet, Einblicke in die Wirkungsweise von Giften zu erhalten. Einmal sind es die Dehydrierungsvorgänge und dann die Oxydationsvorgänge. Lange Zeit haben viele Autoren beide Vorgänge gleichgesetzt, vor allem diejenigen, die die Wieland'sche Dehydrierungstheorie für alle biologischen Oxydationsvorgänge als gesichert anerkannten. Nach der Vorstellung von W i e l a n d kommen die biologischen Oxydationen nicht etwa dadurch zustande, daß das Substratmolekül Sauerstoff aufnimmt, sondern vielmehr Wasserstoff abspaltet. Der Sauerstoff hat nach ihm lediglich die Aufgabe, den aktivierten Wasserstoff der Nährstoffe zu binden. Eine Aktivierung des Sauerstoffes leugnet Wieland. Der Sauerstoff kann durch alle die Verbindungen ersetzt werden, die fähig sind, Wasserstoff aufzunehmen, wie z. B. Farbstoffe, die unter Reduktion entfärbt werden. Es ist in der Tat gelungen, eine ganze Reihe von „sauerstofflosen Oxydationen" durchzuführen. T h u n b e r g [18]) und sein Schüler A h l g r e n [19]) benutzten als Wasserstoffaccektor Methylenblau und konnten mit seiner Hilfe eine große Anzahl von Dehydrierungsvorgängen im Gewebe auffinden, die auch als eigentliche Oxydationen bekannt waren. Das Methylenblau wird hierbei im Vakuum nach Zusatz von Gewebebrei und Nährstoffen entfärbt, während ohne Zusatz des Nährstoffes eine Entfärbung des Methylenblaus nicht auftritt. Die zu fordernden Dehydrierungsprodukte wurden von ihnen jedoch nicht isoliert. Eine Reihe der zu fordernden Dehydrierungsprodukte wurden von H a h n und H a a r m a n n [20]) nachgewiesen. Es entsteht so als Dehydrierungsprodukt der Bernsteinsäure die Fumarsäure, die Wasser anlagert und in Aepfelsäure übergeht. Zwischen Aepfel- und Fumarsäure besteht ein Gleichgewichtszustand. Die Aepfelsäure geht unter Abspaltung von Wasserstoff in Oxalessigsäure über, die nach Verlust von CO_2 Brenztraubensäure liefert.

---

[18]) Skandinavisches Archiv für Physiologie: 35, 163, 1918; 40, 1, 1920.

[19]) Ebenda 47, 1925. Supplement Band.

[20]) Z. f. Biologie: 86, 523, 1927; 87, 107, 1928; 87, 465, 1928; 88, 516, 1929; 88, 587, 1929; 89, 159, 1929; 89, 332, 1929; 89, 563, 1930; 90, 231, 1930; 91, 315, 1931.

$$HOOC . CH_2 . CH_2 . COOH - 2H \rightarrow HOOC . CH{=}CH . COOH$$

Bernsteinsäure — Fumarsäure

$$HOOC . CH{=}CH . COOH + H_2O \rightleftarrows HOOC . CH_2 . CHOH . COOH$$

Aepfelsäure

$$HOOC . CH_2 . CHOH . COOH - 2H \rightarrow HOOC . CH_2 . CO . COOH$$

Oxalessigsäure

$$HOOC . CH_2 . CO . COOH - CO_2 \rightarrow CH_3 . CO . COOH$$

Brenztraubensäure

Milchsäure wird unter den gleichen Bedingungen anaerob zu Brenztraubensäure dehydriert.

$$CH_3 . CHOH . COOH - 2H \rightarrow CH_3 . CO . COOH$$

Propionsäure, Zitronensäure und Hexosephosphorsäure liefern als Endprodukt gleichfalls Brenztraubensäure.

Nachdem es gelungen war, auch unter anaeroben Bedingungen dieselben Endprodukte zu erhalten, wie sie bei der Oxydation mit Sauerstoff zu fordern sind, lag der Gedanke nahe, daß die biologischen Oxydationsvorgänge tatsächlich als Dehydrierungsvorgänge aufzufassen sind. Besteht diese Annahme zu recht, dann muß gefordert werden, daß die Dehydrierungen und die Oxydationen auch durch Gifte gleichmäßig beeinflußt werden. Die Erfahrungen aus dem hiesigen Institut haben aber gelehrt, daß die Dehydrierungen und die Oxydationen unabhängig voneinander verlaufen und sogar antagonistisch beeinflußt werden können. Man muß also die Dehydrierungen und Oxydationen als selbständige Stoffwechselleistungen der Zelle auffassen.

In den Tabellen 5—9 ist die Größe des Dehydrierungs- und des Oxydationsvermögens getrennt aufgeführt. Das Dehydrierungsvermögen ergibt sich aus dem reziproken Wert für die Entfärbungszeit des Methylenblau, da ja die Zelle umso energischer dehydriert, je schneller sie das Methylenblau entfärbt. Das Oxydationsvermögen ist durch die Menge des aufgenommenen Sauerstoffes bestimmt.

Es ergab sich, daß der Sauerstoffverbrauch des Gewebes in fast allen Fällen in Gegenwart der Gifte erheblich niedriger ist als das Dehydrierungsvermögen. Die Dehydrierungen sind häufig sogar stark gesteigert, während die Oxydationen stark ge-

Tabelle 5.

Skelettmuskel: ohne Zusatz.

Konzentration		Milchsäure-bildung	Dehydrierungs-vermögen	Oxydations-vermögen
Bromacetat	1.10^{-9} m	193	111	79
	1.10^{-8} m	184	117	81
	1.10^{-7} m	146	117	84
	1.10^{-6} m	144	121	87
	1.10^{-5} m	137	130	107
	1.10^{-4} m	90	123	103
	1.10^{-3} m	14	103	89
	1.10^{-2} m	Schwund	87	61
	1.10^{-1} m	„	18	15
Fluorid	1.10^{-9} m	102	127	68
	1.10^{-8} m	105	129	73
	1.10^{-7} m	102	129	78
	1.10^{-6} m	205	128	81
	1.10^{-5} m	202	129	96
	1.10^{-4} m	200	129	85
	1.10^{-3} m	49	313	76
	1.10^{-2} m	Schwund	305	69
	1.10^{-1} m	„	48	50
Oxalat	1.10^{-9} m	186	104	80
	1.10^{-8} m	214	109	82
	1.10^{-7} m	233	110	84
	1.10^{-6} m	239	113	89
	1.10^{-5} m	224	115	109
	1.10^{-4} m	221	116	97
	1.10^{-3} m	111	169	81
	1.10^{-2} m	33	149	64
	1.10^{-1} m	Schwund	75	26

hemmt sind. Die beiden Zell-Leistungen, Dehydrierung und Oxydation, werden also in entgegengesetzter Richtung beeinflußt. Die Sauerstoffatmung des Skelettmuskels wird mit Ausnahme der Konzentration von 1.10^{-5} m der drei Gifte herabgesetzt, die Dehydrierungen dagegen verlaufen beschleunigt. Hingewiesen sei hier darauf, daß die Wirkungskurven der drei Gifte auf die Oxydationen einen recht merkwürdigen Verlauf nehmen. In hohen Konzentrationen ist der Sauerstoffverbrauch gegenüber dem Kontrollversuch erheblich vermindert. Mit steigenden Verdünnungen läßt die Hemmung nach und schlägt von einer bestimmten Dosierung ab in eine Förderung um. In mittleren

Konzentrationen, die für die drei Gifte nicht einheitlich bei derselben molaren Konzentration ihr Optimum der Wirkung zeigen, sind die Oxydationen gesteigert. Eine Ausnahme bildet lediglich die Oxydation der Hexosediphosphorsäure (Tabelle 7). Hier werden annähernd die Zahlen wie für die Kontrollversuche wieder erreicht. Läßt man noch stärkere Verdünnungen der Gifte auf die Oxydationsvorgänge einwirken, dann werden die Oxydationen erneut gehemmt. Wir haben hier also das merkwürdige Phänomen zu verzeichnen, daß große und kleine Gaben dieselbe Wirkungsrichtung haben, während mittlere Konzentrationen entgegengesetzt wirken.

Tabelle 6.

Skelettmuskel: Glykogenzusatz.

Konzentration		Milchsäurebildung	Dehydrierungsvermögen	Oxydationsvermögen
Bromacetat	1.10^{-9} m	118	98	88
	1.10^{-8} m	122	99	98
	1.10^{-7} m	134	118	100
	1.10^{-6} m	128	109	108
	1.10^{-5} m	112	108	111
	1.10^{-4} m	105	102	125
	1.10^{-3} m	101	91	83
	1.10^{-2} m	Schwund	68	71
	1.10^{-1} m	„	57	41
Fluorid	1.10^{-9} m	102	100	87
	1.10^{-8} m	114	100	95
	1.10^{-7} m	112	100	104
	1.10^{-6} m	124	100	113
	1.10^{-5} m	123	100	116
	1.10^{-4} m	112	100	131
	1.10^{-3} m	71	100	100
	1.10^{-2} m	7	100	91
	1.10^{-1} m	Schwund	100	67
Oxalat	1.10^{-9} m	110	106	87
	1.10^{-8} m	124	106	89
	1.10^{-7} m	119	115	106
	1.10^{-6} m	122	121	113
	1.10^{-5} m	117	122	117
	1.10^{-4} m	106	115	131
	1.10^{-3} m	100	115	93
	1.10^{-2} m	24	114	88
	1.10^{-1} m	Schwund	63	51

Tabelle 7.

Skelletmuskel: Hexosediphosphat.

Konzentration		Milchsäure-bildung	Phosphat-abspaltung	Dehy-drierungs vermögen	Oxydations-vermögen
Bromacetat	1.10^{-9} m	101	89	101	84
	1.10^{-8} m	119	106	103	86
	1.10^{-7} m	125	97	107	90
	1.10^{-6} m	133	86	136	94
	1.10^{-5} m	130	110	186	96
	1.10^{-4} m	106	95	125	88
	1.10^{-3} m	83	100	88	85
	1.10^{-2} m	5	74	72	62
	1.10^{-1} m	Schwund	26	29	26
Fluorid	1.10^{-9} m	105	104	135	70
	1.10^{-8} m	124	113	143	74
	1.10^{-7} m	114	103	148	78
	1.10^{-6} m	112	96	144	89
	1.10^{-5} m	104	114	146	92
	1.10- m	103	95	141	84
	1.10^{-3} m	88	90	135	73
	1.10^{-2} m	29	67	113	59
	1.10^{-1} m	Schwund	37	34	54
Oxalat	1.10^{-9} m	99	91	102	74
	1.10^{-8} m	104	95	102	76
	1.10^{-7} m	120	90	103	82
	1.10^{-6} m	121	96	103	86
	1.10^{-5} m	124	95	234	88
	1.10^{-4} m	107	87	186	91
	1.10^{-3} m	94	84	155	81
	1.10^{-2} m	23	72	135	64
	1.10^{-1} m	Schwund	19	91	40

Die Dehydrierungsvorgänge zeigen unter dem Einfluß der Gifte einen anderen Kurvenverlauf. Wie die Oxydationen, so werden auch sie durch hohe Konzentrationen stark geschädigt und in mittleren Konzentrationen stark gefördert. Das Maximum der Förderung stimmt aber nicht mit den maximal steigernden Konzentrationen für die Oxydationsvorgänge überein. Eine gleichsinnige Beeinflussung der Dehydrierungen durch große und kleine Gaben der drei Stoffe läßt sich jedoch nicht wie bei den Oxydationen zeigen.

Tabelle 8.

Hirn: Glukosezusatz.

Konzentration		Milchsäure-bildung	Dehydrierungs-vermögen	Oxydations-vermögen
Bromacetat	1.10^{-9} m	118	117	82
	1.10^{-8} m	107	117	84
	1.10^{-7} m	105	117	93
	1.10^{-6} m	95	115	100
	1.10^{-5} m	76	115	105
	1.10^{-4} m	37	112	111
	1.10^{-3} m	3	108	100
	1.10^{-2} m	Schwund	99	59
	1.10^{-1} m	"	48	47
Fluorid	1.10^{-9} m	103	100	88
	1.10^{-8} m	103	100	92
	1.10^{-7} m	103	100	95
	1.10^{-6} m	112	100	103
	1.10^{-5} m	112	114	110
	1.10^{-4} m	115	109	118
	1.10^{-3} m	46	102	108
	1.10^{-2} m	5	100	105
	1.10^{-1} m	3	68	80
Oxalat	1.10^{-9} m	98	100	96
	1.10^{-8} m	100	100	97
	1.10^{-7} m	99	98	108
	1.10^{-6} m	103	95	108
	1.10^{-5} m	103	84	110
	1.10^{-4} m	89	77	111
	1.10^{-3} m	69	90	97
	1.10^{-2} m	38	93	77
	1.10^{-1} m	26	144	74

Ueberblicken wir die an den Oxydationen und Dehydrierungen gewonnenen Erfahrungen, so drängt sich uns die Schlußfolgerung auf, daß die Dehydrierungen vorbereitende Reaktionen für die Oxydationen sind. Sind bereits die Dehydrierungen verlangsamt, dann müssen notgedrungen auch die Oxydationen verlangsamt sein. Wir sehen aber immer wieder, daß die Dehydrierungen beschleunigt sind, während die Oxydationen gehemmt sind. Es muß also hier noch ein zweiter Faktor mitspielen. Es handelt sich hier um die Frage der Sauerstoffaktivierung, die ja für die Dehydrierungen, bei denen nicht der

Tabelle 9.

Herz: Glukosezusatz.

Konzentration		Milchsäure-bildung	Dehydrierungs-vermögen	Oxydations-vermögen
Bromacetat	1.10^{-9} m	100	126	82
	1.10^{-8} m	100	126	84
	1.10^{-7} m	110	123	93
	1.10^{-6} m	116	129	96
	1.10^{-5} m	121	126	126
	1.10^{-4} m	37	113	118
	1.10^{-3} m	4	102	114
	1.10^{-2} m	Schwund	69	79
	1.10^{-1} m	"	29	6
Fluorid	1.10^{-9} m	113	235	114
	1.10^{-8} m	148	218	116
	1.10^{-7} m	122	218	128
	1.10^{-6} m	120	151	130
	1.10^{-5} m	113	135	134
	1.10^{-4} m	81	116	146
	1.10^{-3} m	36	116	110
	1.10^{-2} m	6	106	107
	1.10^{-1} m	4	92	70
Oxalat	1.10^{-9} m	118	129	78
	1.10^{-8} m	113	129	79
	1.10^{-7} m	118	129	81
	1.10^{-6} m	125	129	83
	1.10^{-5} m	121	129	91
	1.10^{-4} m	100	105	119
	1.10^{-3} m	91	105	103
	1.10^{-2} m	30	92	85
	1.10^{-1} m	14	71	55

Sauerstoff, sondern irgend ein Farbstoff als Wasserstoffacceptor wirkt, belanglos sein muß. Diese Aktivierung des Sauerstoffes wird aber von Wieland mit Unrecht geleugnet. Nach Warburg ist zum Zustandekommen von biologischen Oxydationen eine Aktivierung des Sauerstoffes notwendig, die durch sein sogen. Atmungsferment bewerkstelligt wird. Das Atmungsferment ist nach Warburg eine Hämin-Eisenverbindung. Das Ferroeisen des Atmungsfermentes nimmt Sauerstoff auf und geht dadurch in eine Ferri-Verbindung über. Die Ferri-Verbindung gibt den Sauerstoff an die oxydable Substanz ab und wird

so wieder zur Ferro-Verbindung reduziert. Der Kreislauf beginnt dann wieder von neuem. Wie Wieland die Aktivierung des Sauerstoffes leugnet, so leugnet Warburg die Aktivierung des Wasserstoffes. Die Wahrheit dürfte in der Mitte liegen. Wir nehmen also für das Zustandekommen der biologischen Oxydationsvorgänge sowohl eine Aktivierung des Wasserstoffes wie auch des Sauerstoffes an. Bestünde die Warburg'sche Annahme eines einheitlichen Atmungsfermentes zu recht, dann müßten sämtliche Oxydationsvorgänge durch ein und dasselbe Gift in der gleichen Weise beeinflußt werden, was aber nicht der Fall ist. Wir müssen vielmehr eine große Anzahl von spezifisch wirkenden Oxydationsfermenten annehmen, vielleicht in der Weise, daß der eine Bestandteil, der der Sauerstoffübertragung dient (Eisen) allen gemeinsam ist. Nur die zweite Komponente ist verschieden gebaut und bewirkt die Spezifität der Oxydationsfermente. Eine Spezifität der Gewebsdehydrasen hat Thunberg in seinen bekannten Untersuchungen gezeigt. Die dehydrierenden Fermente bewirken eine Aktivierung des Wasserstoffes, sodaß dieser aktivierte Wasserstoff, mit dem durch die spezifischen Oxydationsfermente aktivierten Sauerstoff in Reaktion treten kann.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Reihe von Stoffwechselleistungen der Zelle und zwar Milchsäurebildung, die Spaltung von organischen Phosphorsäuren, die Dehydrierungsvorgänge und die Oxydationsvorgänge unter der Einwirkung vom Bromacetat, Fluorid und Oxalat miteinander verglichen. Die drei Verbindungen hemmen in hohen Konzentrationen sämtliche 4 Stoffwechselleistungen und beschleunigen sie in mittleren Konzentrationen. In sehr starken Verdünnungen wird das Oxydationsvermögen wiederum verschlechtert, nicht aber das Dehydrierungsvermögen und Milchsäurebildungsvermögen. Große und kleine Gaben der drei Gifte wirken auf die Oxydationen also in der gleichen Richtung ein. Ihr Einfluß auf die Dehydrierungen und Oxydationen ist verschieden. Immer aber ist das Oxydationsvermögen mehr verschlechtert als das Dehydrierungsvermögen.

Es wird an Hand der Giftwirkung der drei Verbindungen versucht, den Nachweis zu führen, daß die Oxydationen und die Dehydrierungen selbständige Stoffwechselleistungen der Zelle sind, in der Weise, daß die Dehydrierungen die vorbereitenden Reaktionen für die Oxydationen sind. Die Hemmung bzw. Steigerung der Milchsäurebildung aus Kohlenhydraten, die über die Stufe der Hexosephosphorsäureester verläuft, beruht vor allem auf einer verminderten bzw. angeregten Tätigkeit der Gewebsphosphatasen. Lediglich beim Abbau der Glukose, der wie im Hirn nicht mit einer Phosphorylierung verbunden ist, müssen die Gifte, besonders die Monobromessigsäure, an anderer nicht näher bekannter Stelle in die Glukosespaltung eingreifen.

Lebenslauf.

Am 4. August 1899 wurde ich als Sohn des Landesamtmannes Karl Dickel zu Münster i. Westf. geboren. Ich besuchte zunächst zwei Jahre die Oberrealschule, dann bis zur Obersekunda das Realgymnasium zu Dortmund. Im Juni 1917 trat ich in das Heer ein und machte als Angehöriger des II. Garde-Regimentes zu Fuß den Feldzug an der Westfront bis Schluß des Krieges mit. Nach meiner Rückkehr bestand ich am 15. Dezember 1919 das Abitur, war ab 1. Januar 1920 bis 31. Januar 1921 in der Engelapotheke in Dortmund als Praktikant und vom 1. Februar 1921 bis 30. April 1927 nach $1^1/_2$jähriger Lehrzeit als kaufmännischer Beamter bei der „Concordia Elektrizitäts A.-G." Dortmund tätig. Im Sommersemester 1927 nahm ich das Studium der Zahnheilkunde an der Universität zu Münster auf, bestand hier am 2. August 1928 das Vorexamen mit „gut" und am 16. Dezember 1930 das Staatsexamen mit der gleichen Note. Nach zweijähriger Assistententätigkeit in verschiedenen Praxen habe ich mich am 1. April 1933 in Dortmund als Zahnarzt niedergelassen.